

Detección amperométrica de dopamina usando un electrodo de oro modificado con polipirrol sobreoxidado mediante la tecnología de impresión molecular (MIP)

Esteban O. Benavides[†], Fernando E. Larmat[†]

[†]Departamento de Química, Universidad del Valle, Cali, 25360 Cali, Colombia.

RESUMEN: En el presente trabajo se desarrolló un sensor amperométrico para la detección selectiva de dopamina (DA), usando la tecnología de impresión molecular sobre polímeros conductores (MIP). El sensor consiste en un microelectrodo de oro modificado con una película de polipirrol sobreoxidado sobre la cual se hizo el implante molecular de la DA, (Au/OPPy-DA). El sensor presentó una respuesta amperométrica más alta que la obtenida con el electrodo modificado sin plantilla (Au/OPPy). Estos resultados demuestran el papel fundamental que desempeña el proceso de impresión molecular en el aumento de la capacidad de reconocimiento selectivo del sensor. Se utilizó voltametría cíclica (VC) para la caracterización electroquímica del sensor y voltametría de pulso diferencial (VDP) para cuantificar la respuesta amperométrica en soluciones acuosas que contenían DA en el rango de concentraciones de 5 - 100 μ M. Finalmente, se investigó la selectividad del sensor electroquímico frente a interferentes biológicos comunes como el ácido ascórbico (AA).

Palabras clave: Sensor electroquímico, polímeros conductores, polímeros impresos molecularmente, Dopamina, Voltametría de pulso diferencial (VDP), Voltametría Cíclica (VC)

ABSTRACT: In this paper an amperometric sensor for selective detection of dopamine (DA) was developed, using molecular imprinting technology on conductive polymers (MIP). The sensor consist in a gold microelectrode modified with overoxidized polipirrol with the molecular template of DA, (Au/OPPy-DA). The sensor showed a response that was higher than the response for the sensor modified Au/OPPy without the template. This result shows the fundamental role of the molecularly imprinting process for increase the capacity of selective recognition of the sensor. Cyclic voltammetry was used for the electrochemical characterization of the sensor and differential pulse voltammetry was used to quantitate the amperometric response of aqueous solutions containing DA in the concentration range 5 - 100 μ M. Finally, the selectivity of the electrochemical sensor against common biological interferents such as ascorbic acid (AA) was investigated.

Keywords: Electrochemical sensor, Conductive polymers, Molecularly imprinted polymers, Dopamine, Differential Pulse Voltammetry (DPV), Cyclical Voltammetry (VC)

1. INTRODUCCIÓN

La Dopamina (DA) es un neurotransmisor vital en el sistema nervioso central y periférico de los mamíferos. Los bajos niveles de DA están asociados a la esquizofrenia, demencia senil y a la enfermedad de Parkinson¹. Debido a su importancia biológica, la detección de DA con alta

sensibilidad y selectividad son de gran interés como herramienta de diagnóstico temprano y el seguimiento de este tipo de trastornos neurológicos.²

En la actualidad, se han implementado diferentes métodos analíticos que han permitido el aislamiento y detección de

estos neurotransmisores en muestras biológicas como la cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica³, quimioluminiscencia⁴ y cromatografía de gas con detección de masas⁵ que a pesar de tener una alta sensibilidad y precisión, poseen las desventajas de ser costosos por la necesidad de usar solventes orgánicos, e implementar complejas etapas de tratamiento previo de muestras y altos tiempos de análisis.

Los objetivos actuales de la química analítica se centran en la investigación y desarrollo de nuevos métodos de análisis que permitan la detección y cuantificación de moléculas de interés biológico (como la Dopamina) con instrumentación de bajo costo y fácil operación, con tiempos de medición cortos, pero principalmente con alta sensibilidad. Una buena alternativa para cumplir con esta demanda la brindan las técnicas electroanalíticas por medio de la fabricación de sensores electroquímicos basados en la tecnología de polímeros impresos molecularmente (MIP)^{6,7}, contruidos a partir de materiales que poseen propiedades de reconocimiento molecular y que pueden ser usados potencialmente como técnica que compita con los métodos analíticos convencionales mencionados.

El polímero conductor empleado en este trabajo será, polipirrol (PPy) que tiene características atractivas como un sistema de reconocimiento molecular debido a que es fácil de preparar, posee buenas propiedades electroquímicas, es estable con el medio ambiente, tiene una buena conductividad y sobre todo una buena biocompatibilidad, lo que es muy adecuado para la detección de moléculas de interés biológico⁸. La película de polipirrol puede someterse a un proceso de sobreoxidación electroquímica que le confieren a la película de polipirrol sobreoxidada (OPPy) excelentes propiedades de intercambio iónico y tamiz molecular en comparación con la película de polipirrol convencional (PPy), otorgando a los electrodos recubiertos con este tipo de material, selectividad y sensibilidad hacia los analitos de interés.⁹

En el presente trabajo se presenta el desarrollo de un sensor amperométrico para la determinación selectiva de DA, combinando los conceptos de electrodos modificados con polímeros conductores e impresión molecular en polímeros. Para ello se desarrolló un sensor electroquímico mediante la modificación de la superficie de un microelectrodo de disco de oro ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) con una película de polipirrol sobreoxidado electro sintetizado en presencia

de moléculas plantillas de DA y su aplicación en la posterior detección amperométrica de DA.

2. EXPERIMENTACIÓN

2.1 Materiales

La Dopamina, ácido ascórbico y pirrol fueron suministrados por Sigma-Aldrich. El pirrol fue purificado por destilación, se protegió burbujeando nitrógeno de alta pureza y se almacenó a $-4\ ^\circ\text{C}$ hasta el momento de su uso. El nitrógeno de alta pureza fue provisto por Cryogas. Las soluciones reguladoras de fosfato (PBS, $\text{pH}=7.0$) que se utilizaron en este trabajo se prepararon con $0.1\ \text{M}\ \text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$. Todos los reactivos utilizados fueron de grado reactivo analítico. Para la preparación de las soluciones se usó agua desionizada con una conductividad entre 0.04 y $0.06\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}$.

2.2 Aparatos

Los experimentos de voltamperometría cíclica (VC) y de voltamperometría de pulso diferencial (VDP) se registraron en una estación electroquímica CHI 760B (CH Instrument, Inc., USA) utilizando una caja de Faraday amplificadora de señal, gobernados por un software de la misma marca. Las medidas electroquímicas se realizaron en una celda convencional de tres electrodos en la que se utilizó un microelectrodo de disco de oro modificado ($\varnothing=25\ \mu\text{m}$) como electrodo de trabajo. Un alambre de platino como electrodo auxiliar y un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia. Todas las medidas electroquímicas se llevaron a cabo purgando las soluciones con nitrógeno de alta pureza durante 3 minutos y bajo las condiciones ambientales de la ciudad de Santiago de Cali¹⁰ (Temperatura entre $296\ \text{K}$ y $300\ \text{K}$ y presión atmosférica entre 100.90 y $100.98\ \text{kPa}$)

2.3 Medidas electroquímicas

Para el proceso de electropolimerización potenciostática de pirrol y sobreoxidación de la película de polipirrol se utilizó un voltaje constante de $0.8\ \text{V}$ Vs Ag/AgCl durante 120 segundos y $1.0\ \text{V}$ Vs Ag/AgCl durante 80 segundos respectivamente.

Para la caracterización del sensor electroquímico se usó Voltamperometría cíclica (VC) variando el potencial entre 0.0 y $0.4\ \text{V}$ a una velocidad de $80\ \text{mV/s}$ durante 4 ciclos.

Para evaluar la respuesta amperométrica del sensor se usó la técnica de voltamperometría de pulso diferencial (VPD)

en el rango de potenciales entre 0.0 y 0.4 V. La amplitud del pulso fue de 0.05 V, la sensibilidad fue de 1×10^{-9} V y el incremento del potencial fue de 0.004 V.

2.4 Preparación del microelectrodo modificado

Antes de la modificación, el microelectrodo de disco de oro desnudo se pulió mecánicamente utilizando alúmina ($0.05 \mu\text{m}$) en etanol por tres minutos. Luego, se lavó ultrasónicamente en una mezcla de agua/isopropanol (1:1) durante 5 minutos para eliminar las partículas adsorbidas. Finalmente, el microelectrodo se limpió electroquímicamente ciclando el potencial del electrodo entre 0.0 y 1.5 V, en ácido sulfúrico 0.5 M (50 mV/s durante 40 ciclos), hasta que se observaron voltamogramas reproducibles¹¹. La síntesis del sensor electroquímico se llevó a cabo electropolimerizando una solución acuosa que contenía 0.1 M Pirrol, 0.1 M KNO_3 , PBS (0.1 M, $\text{pH}=7.0$) y una concentración de molécula plantilla (0.5 mM DA). El proceso de electropolimerización potenciostática se llevó a cabo a 0.8 V vs Ag/AgCl por 120 segundos. Luego, se realizó un proceso de sobreoxidación de la película conductora de polipirrol sumergiendo el microelectrodo de oro en una solución de 0.1 M NaOH y aplicando un potencial de 1.0 V Vs Ag/AgCl, durante 80 segundos.^{12,13} Este microelectrodo modificado se denominó Au/OPPy-DA. Bajo las mismas condiciones de síntesis se modificó electroquímicamente el microelectrodo de oro pero sin adicionar la molécula plantilla al que se denominó Au/OPPy. Un esquema general de la metodología de síntesis del sensor y el proceso de formación del polímero impreso molecularmente se pueden observar en la Figura 1 y 2 respectivamente.

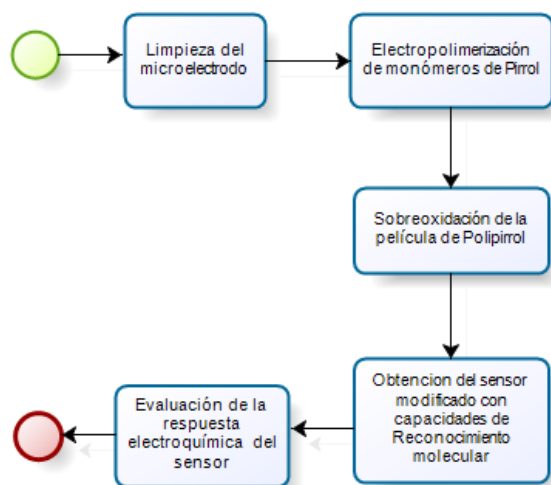


Figura 1. Diagrama de flujo de las etapas de la metodología utilizada para la preparación del sensor electroquímico.

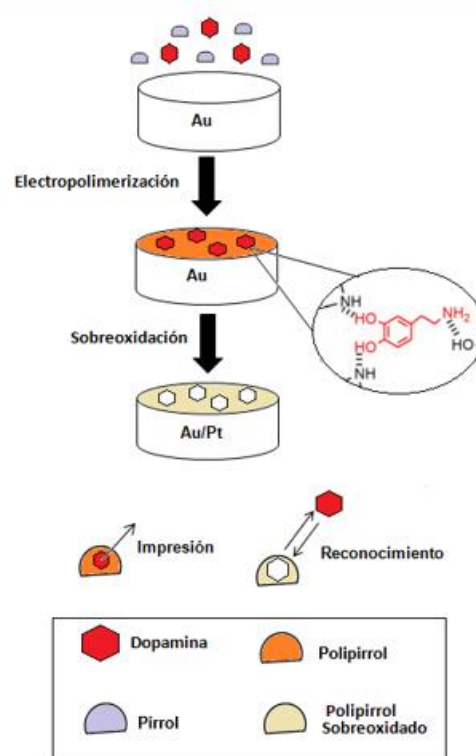


Figura 2. Proceso general de electro síntesis esquemática de un electrodo modificado utilizando la metodología MIPs. Au /OPPy-DA. Adaptación de Do, P.¹⁴

2.5 Evaluación de la respuesta electroquímica del sensor modificado.

Inicialmente, la evaluación de la respuesta electroquímica se realizó por voltamperometría de pulso diferencial (VDP) en una solución $60 \mu\text{M}$ de DA comparando las corrientes de los picos de oxidación del microelectrodo de Au modificado con plantilla (Au/OPPy-DA) y sin plantilla (Au/OPPy).

Luego, se midió la respuesta electroquímica en el sensor modificado Au/OPPy-DA en 7 soluciones de diferentes concentraciones de DA en el rango de $5\text{--}100 \mu\text{M}$ en buffer tampón de fosfatos (PBS, $\text{pH}=7.0$). Posteriormente, con el fin de estudiar el comportamiento electroquímico de la dopamina en función del pH, se realizó VDP en soluciones que contenían $60 \mu\text{M}$ de DA en 0.1 M PBS a diferentes valores de pH (Rango: $5.5\text{--}7.5$) empleando el sensor electroquímico modificado con plantilla Au/ (OPPy-DA) y sin plantilla Au/OPPy. Finalmente, para evaluar la selectividad del electrodo modificado con relación a la dopamina, se adicionaron concentraciones de ácido ascórbico (AA) en el rango de 60 a $200 \mu\text{M}$ a una solución de $60 \mu\text{M}$ DA en 0.1 M PBS ($\text{pH}=7.0$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Síntesis y caracterización del sensor electroquímico modificado

Con el fin de evidenciar la importancia de la sobreoxidación de la película de polipirrol en la síntesis del sensor electroquímico y de la adición de una cantidad de DA como molécula plantilla en el aumento de la corriente del pico de oxidación, se realizó el seguimiento a las etapas de síntesis por voltamperometría cíclica variando el potencial entre 0.0 V y 0.5 V a una velocidad de barrido de 80 mV/s por 4 ciclos.

En la figura 3 se puede observar que la respuesta electroquímica más alta para la oxidación de una solución de 60 μ M DA en 0.1 M de PBS (0.1M, pH=7.0) corresponde al sensor modificado con la plantilla molecular luego del proceso de sobreoxidación (Au/OPPy-DA)

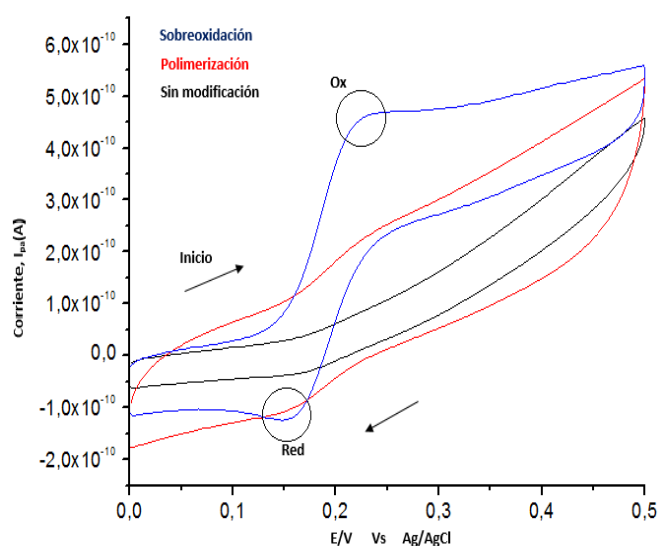


Figura 3. VC para una solución de 60 μ M DA en PBS (0.1 M, pH=7.0) para diferentes etapas de síntesis del microelectrodo de Au con plantilla molecular de DA.

Este comportamiento puede explicarse teniendo en cuenta que la sobreoxidación de la película de polipirrol causa la formación de grupos carbonilo y carboxilo en la cadena principal de polipirrol, que atraen los grupos electropositivos presentes en la estructura química de la dopamina ($R-NH_3^+$), aumentando la capacidad de reconocimiento molecular de esta molécula⁵ y por consiguiente la respuesta electroquímica del sensor. Esta propiedad, es también la razón por la que se seleccionó al

pirrol como material polimérico para la producción de un sensor electroquímico altamente selectivo a la DA.

En la figura 4 se presentan los voltamogramas de pulso diferencial utilizando un rango de potencial de 0.0- 0.4 V Vs Ag/AgCl, con el fin de observar la respuesta electroquímica del polímero impreso molecularmente (MIP) en una solución de 60 μ M de DA en el microelectrodo de oro modificado con plantilla molecular (Au/OPPy-DA) y sin plantilla molecular (Au/OPPy).

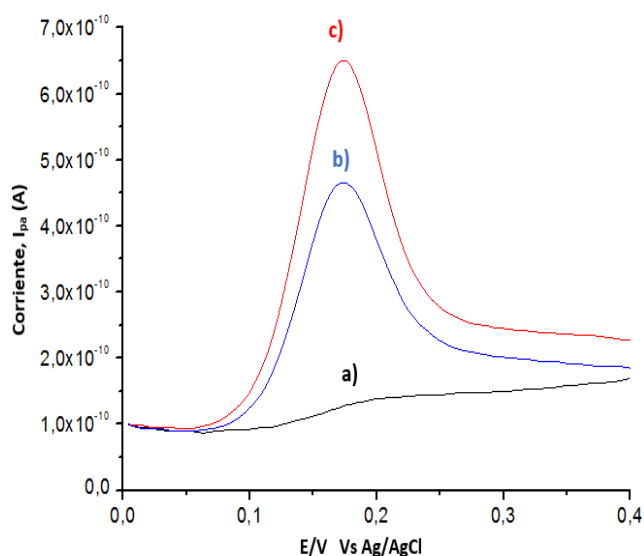
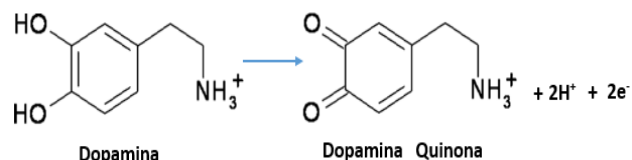


Figura 4. VDP para a) Au b) Au/OPPy y c) Au/OPPy-DA en 60 μ M Da en 0.1 M PBS (pH=7.0).

Al comparar las corrientes de los picos de oxidación del microelectrodo de Au modificado con plantilla y sin plantilla se observa un incremento del 47% de la corriente del pico de oxidación de DA respecto a la señal analítica en el microelectrodo modificado sin plantilla molecular. También, podemos observar un pico anódico a 0.160 V vs Ag/AgCl que corresponde al proceso de oxidación de la DA. El mecanismo de oxidación electroquímica de la dopamina¹⁶ se describe en el esquema 1.



Esquema 1. Reacción de oxidación de la DA.

Adicionalmente, en la figura 5 se observa que la respuesta del sensor electroquímico modificado sin plantilla es menor al sensor modificado con plantilla para diferentes concentraciones de DA. La relación de respuesta entre OPPy-DA/OPPy es 2.1 en promedio, lo que confirma el papel fundamental que desempeña el polímero impreso en el reconocimiento molecular del sensor.¹⁷

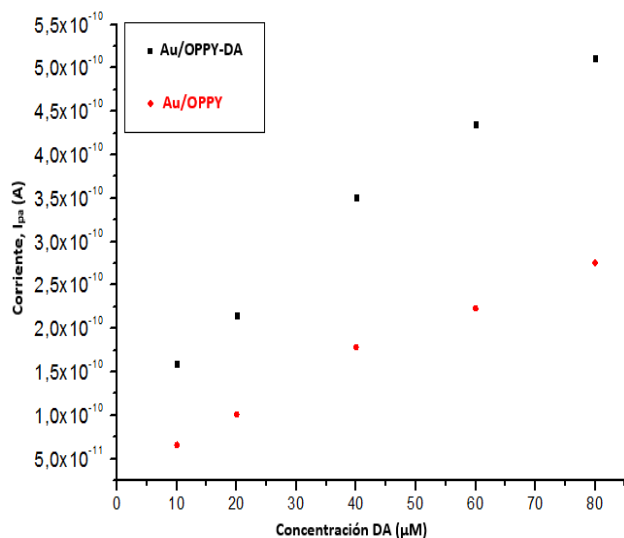


Figura 5. Respuesta electroquímica del sensor impreso molecularmente Au/ (OPPy-DA) en comparación con el sensor sin impresión molecular Au/ (OPPy) para soluciones de Da con concentraciones entre 10 y 80 µM en 0.1 M PBS (pH= 7.0).

La figura 6 nos muestra un voltamograma cíclico (VC) para el microelectrodo sin modificación (Au) en una solución de 60 µM de dopamina en 0.1 M PBS (pH=7.0), se observó una respuesta de la corriente débil de oxidación en comparación a las otras señales obtenidas. Luego, se realizó VC en el microelectrodo modificado sin plantilla (Au/OPPy) para una solución de 60 µM de DA en 0.1 M PBS (pH=7.0) (gráfica 6b). Finalmente se realizó CV en el microelectrodo modificado con plantilla (Au/OPPy-DA) en la misma solución (gráfica 6c). Al comparar las señales analíticas de la gráfica 6b y gráfica 6c observamos que el Au/OPPy-DA exhibe una respuesta de corriente más elevada que el Au/OPPy, lo que evidencia una mayor sensibilidad del sensor Au/OPPy-DA hacia DA atribuida a las cavidades de reconocimiento molecular situadas en la película polimérica. Estas cavidades de reconocimiento molecular se complementan en la forma, tamaño y funcionalidad de la molécula plantilla resultando en una capacidad altamente selectiva de reconocimiento hacia moléculas de DA.¹⁸

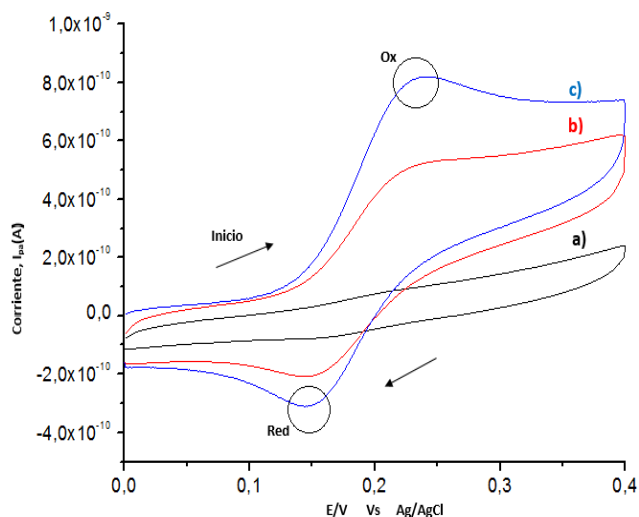


Figura 6. VC para (a) Au (b) Au/OPPy y (c) Au/OPPy-DA en 60 µM Da, PBS (0.1 M, pH=7.0).

3.2 Estudio del comportamiento de la interface microelectrodo/disolución:

Para caracterizar el comportamiento de la interfaz microelectrodo/disolución para la dopamina (DA), se investigó el efecto de la velocidad de barrido, y se calcularon varios parámetros. Al observar la figura 7A identificamos que los picos catódicos y anódicos se encuentran en 0.129 V y 0.160 V Vs Ag/AgCl respectivamente. La separación de pico a pico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 31$ mV) y la relación de la corriente de pico anódico al catódico (I_{pa}/I_{pc}) es 1.31 en promedio, lo que sugiere una reacción electroquímica reversible en la cual la cinética de transferencia electrónica es rápida.

También, se observa los VC para Au/OPPy-DA (0.5 mM) a varias velocidades de barrido que van desde 25 mV / s a 2 V/s, lo que demuestra que los picos de corriente anódico y catódico de DA aumentan simultáneamente con el aumento de la velocidad de barrido. En la figura 7B se muestra la dependencia lineal de los picos de corriente anódica y catódica con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, situación que se presenta cuando el fenómeno de transporte de masa es gobernado por la difusión. Las ecuaciones de regresión lineal son: $Y = 2.4 \times 10^{-10} X - 1.9 \times 10^{-10}$ ($R = 0.9873$) para el pico de corriente anódico y $Y = -1.8 \times 10^{-10} X + 1.5 \times 10^{-10}$ ($R = 0.9827$) para el pico de corriente catódica. Por otra parte, sólo se observó un ligero aumento en la separación de potencial de los picos catódicos y anódicos que van desde 25 mV/s a 2 V/s, lo que sugiere una velocidad de transferencia de electrones rápida para el proceso electroquímico de la DA a través de la interface del microelectrodo/disolución.¹⁹

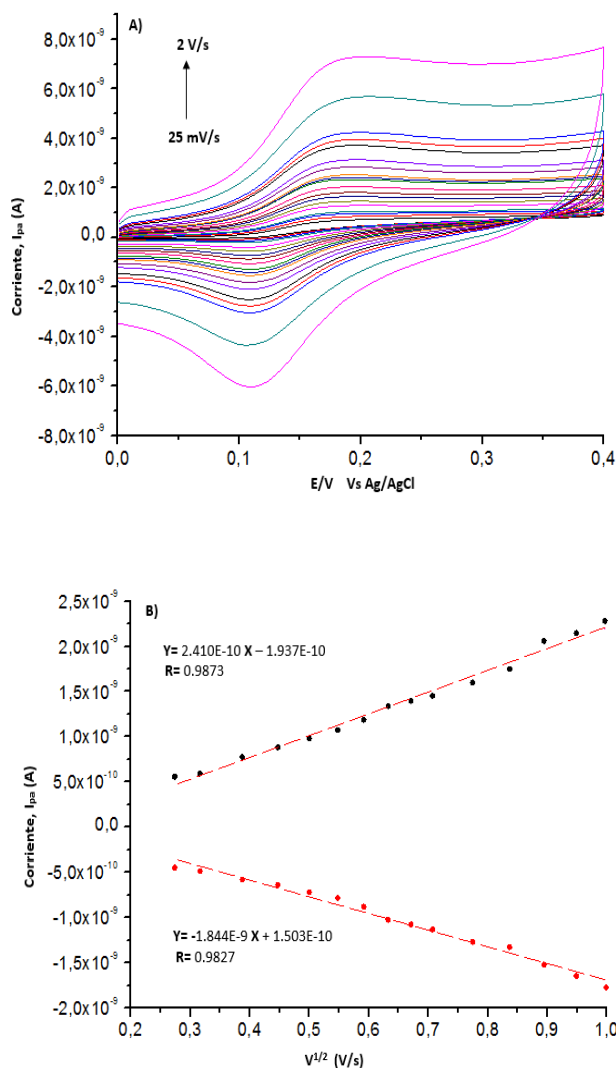
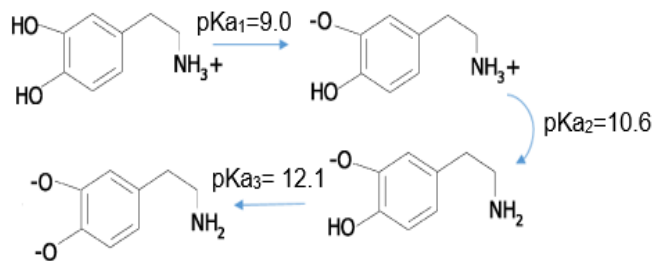


Figura 7. A) VC para Au/OPPy-DA con molécula plantilla (0.5 mM) en 60 μM DA, 0.1 M PBS (pH= 7.0) a diferentes velocidades de barrido entre 25 mV/s y 2 V/s, B) Curva de corriente (I_p) Vs. Raíz cuadrada de la Velocidad de barrido.

3.3 Estudio del comportamiento electroquímico de dopamina en función del pH.

Con el fin de estudiar el comportamiento electroquímico de la dopamina en función del pH, se realizó VDP de las soluciones de análisis que contenían 60 μM de DA en 0.1 M PBS a diferentes valores de pH (Rango: 5.5 - 7.5) empleando el sensor electroquímico modificado con plantilla (Au/OPPy-DA) y sin plantilla (Au/OPPy). En la figura 8 se puede observar que las corrientes del pico de oxidación para la dopamina disminuyen a medida que el pH aumenta, empleando el sensor modificado con plantilla y sin plantilla. En el esquema 2 se representa la disociación de la dopamina, podemos observar que la dopamina posee pK_{as} (9, 10.6 y 12.1)²⁰ por lo que en el pH fisiológico (pH=7.0) la molécula de dopamina presentará una estructura

molecular electropositiva, que será fuertemente atraída hacia los grupos carbonilo y carboxilo presentes en la cadena principal del polipirrol.



Esquema 2. Equilibrios de disociación de la molécula de dopamina.²¹

Posiblemente, a medida que se disminuye el pH existirá una mayor fracción molar de moléculas con estructuras electropositivas fluyendo a través de la doble capa hacia la superficie del sensor atraídas por los sitios activos en el polímero, aumentando la concentración de DA en la interface microelectrodo/disolución y por consiguiente incrementando la señal de corriente de oxidación.²² Estos resultados demuestran que el MIP generado proporciona una mayor selectividad debido a las cargas y los sitios de reconocimiento formados para DA. Por otro lado en la figura 9 se observa que hay una dependencia del Potencial (E) con el pH. A medida que se incrementa el pH de 5.5 a 7.5 disminuyen los potenciales favoreciendo la oxidación de dopamina. Esto obedece a que a pHs altos la molécula de dopamina se encontrará con carga parcial negativa y su proceso de oxidación es más favorable.

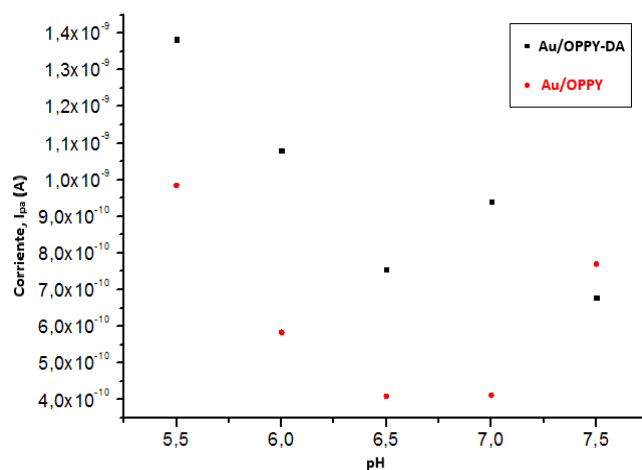


Figura 8. Efecto de la variación del pH de las soluciones analíticas sobre la respuesta electroquímica.

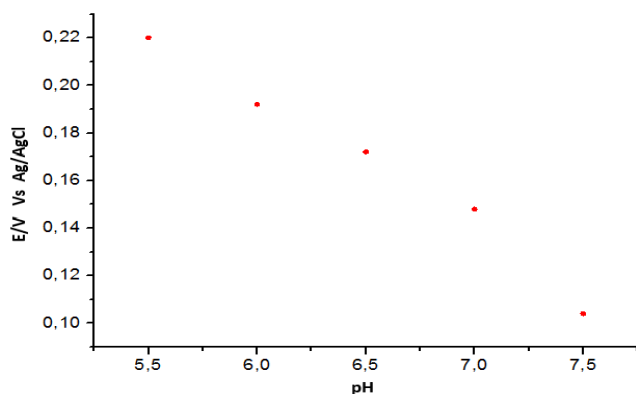


Figura 9. Efecto de la variación del pH de las soluciones analíticas sobre el potencial de oxidación de la DA.

3.4 Evaluación de la respuesta electroquímica de dopamina

Se investigaron las posibles aplicaciones prácticas del sensor electroquímico para la determinación de DA en los rangos aproximados de 10^{-7} – 10^{-3} mol/L, concentraciones a las que se encuentran las más importantes catecolaminas en organismos biológicos.²³

En la figura 10 se muestra la respuesta electroquímica de DA para diferentes concentraciones en el sensor modificado (Au/OPPy-DA). Como se observa, la oxidación electroquímica de DA se encuentra a un potencial de 0,16 V Vs Ag/AgCl. El aumento de la concentración de DA da lugar a que la corriente de oxidación aumente.

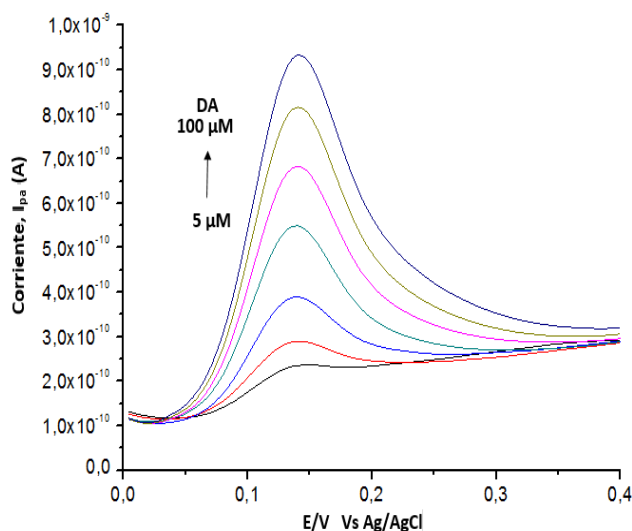


Figura 10. VDP de Da a diferentes concentraciones en (Au/OPPy-DA) en 0,1M PBS (pH=7,0). Las concentraciones de DA en las curvas fueron: 5, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 µM respectivamente.

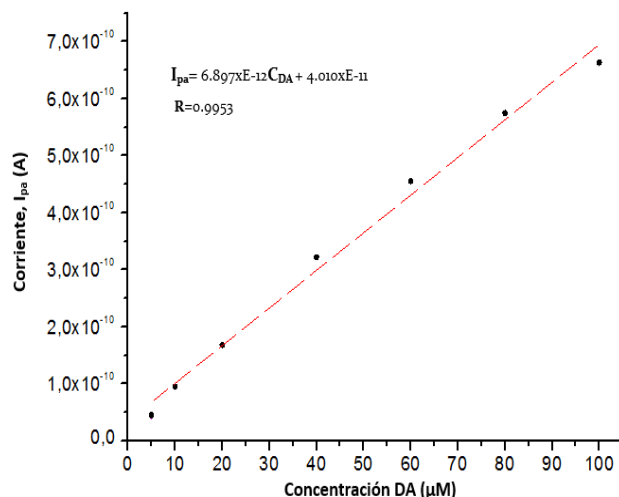


Figura 11. Respuesta lineal del pico de corriente de DA usando el sensor electroquímico modificado impreso molecularmente (Au/OPPy-DA) en el rango de 5 a 100 µM.

Por otra parte, existe una relación lineal entre la concentración de DA y la corriente, con la siguiente expresión de la ecuación de regresión lineal: $I_{pa} = 6.897 \times 10^{-12} C_{DA} + 4.010 \times 10^{-11}$ ($R=0.9953$) cuando el rango de linealidad va desde 5 a 100 µM como se observa en la figura 11.

El límite de detección para el sensor es 1,9 µM y para calcularlo se utilizó la siguiente definición $LDD = 3S_b / q$, donde S_b es la desviación estándar del intercepto y q es la pendiente de la curva de calibración.²⁴ Para verificar la repetibilidad del sensor electroquímico se midieron 10 veces las corrientes de pico de oxidación en una solución de 50 µM DA (Nivel intermedio de la curva de calibración) usando la técnica VDP y el mismo sensor modificado, el resultado mostró una desviación estándar relativa (RSD) de 4.7%. Para la reproducibilidad intermedia se realizó este mismo ensayo, siguiendo 10 veces los pasos de la metodología de síntesis del sensor electroquímico en el mismo microelectrodo de oro en una solución de 50 µM DA, la RSD calculada fue de 9.7%. Estos resultados demuestran que el sensor modificado es repetitivo, reproducible y son semejantes a los reportados por otros autores para esta molécula.

3.5 Estudio de interferentes

Uno de los principales problemas para la detección electroquímica de dopamina (DA) es la interferencia de ácido ascórbico (AA) que está presente en muestras reales en concentraciones similares a la dopamina y pueden ser oxidado a potenciales muy similares resultando en el solapamiento de la respuesta voltamperométrica.²⁵

En la figura 12A se pueden observar experimentos VDP en donde se mantuvo constante la concentración de AA en 50 μM y se varió la concentración de DA entre 10 y 100 μM en 0.1 M PBS (pH=7.0). Adicionalmente, en la figura 12B se realizaron experimentos VPD en donde se mantuvo constante la concentración de DA en 50 μM y se varió la concentración de AA entre 60 y 200 μM en 0.1 M PBS (pH=7.0).

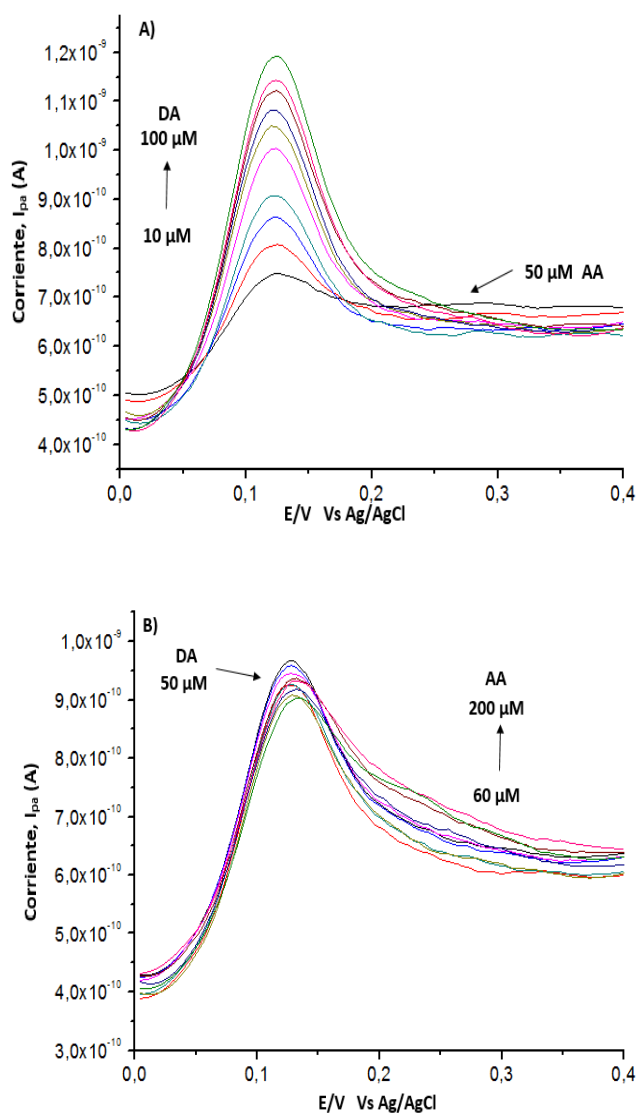


Figura 12. VDP del sensor Au/OPPy-DA. A) 0.1 M PBS (pH=7.0) y 50 μM AA y concentración de DA entre (10 - 100 μM); B) 0.1 M PBS (pH=7.0) y 50 μM DA y concentración de AA entre (60 - 200 μM).

Con lo anterior se demuestra que la respuesta electroquímica del ácido ascórbico es muy poco sensible y no presenta un incremento lineal cuando se aumenta su concentración de 60 a 200 μM , mientras que las corrientes

de oxidación del pico de DA se mantienen sin cambios. No se evidencia un pico de oxidación para AA como resultado de la repulsión electrostática debido a que posiblemente la carga negativa de los grupos carbonilo ($\text{R}-\text{COO}^-$) presentes en la cadena principal de polipirrol luego de la sobreoxidación, repelen a la mayoría de los aniones de AA ($\text{pK}_a = 4.15$)²⁶ de la superficie del electrodo debido a que en pH= 7.0 el AA está cargado negativamente. Finalmente, estos resultados indican que AA no presentó interferencia significativa en la determinación de DA.

4. CONCLUSIONES

Se desarrolló un sensor amperométrico para DA sobre un microelectrodo de Au modificado con una película de OPpy con implantes moleculares de DA (Au/OPPy-DA) utilizando la tecnología de impresión molecular.

Se llevaron a cabo diferentes estudios electroquímicos para investigar la posibilidad de utilizar el sensor en la determinación de dopamina, midiendo la corriente de oxidación de DA, ya que se comprobó la existencia de correlación entre la corriente de oxidación medida en estas condiciones y las concentraciones de DA presente en las soluciones de analíticas.

Los resultados demuestran, que el sensor electroquímico (Au/OPPy-DA) presenta una velocidad de transferencia electrónica rápida generando una corriente límite controlada por difusión y la presencia de cavidades moleculares que mejoran la oxidación electroquímica de la DA.

Se confirmó el papel fundamental que desempeña el polímero impreso molecularmente (polipirrol sobreoxidado con la plantilla molecular, OPpy-DA) sobre la superficie del microelectrodo de oro incrementando la capacidad de reconocimiento molecular del sensor y evidenciado en el aumento de la respuesta electroquímica para la oxidación de la Dopamina frente al microelectrodo de oro sin modificar.

El sensor electroquímico modificado Au/OPPy-DA) presenta un límite de detección (1.9 μM), repetibilidad (RSD=4.7 %) y reproducibilidad intermedia (RSD=10.9%). Es necesario seguir trabajando para disminuir los límites de detección y mejorar la reproducibilidad intermedia. También es posible realizar estudios futuros con otros monómeros electropolimerizables. Finalmente, se corroboró que el sensor electroquímico desarrollado presenta una buena selectividad al ser capaz de generar señales inequívocas de dopamina aun en presencia de ácido ascórbico.

INFORMACIÓN DEL AUTOR

Correspondencia del Autor

Fuentes de Financiación

Este proyecto de investigación fue financiado por el Grupo de Electroquímica de la Universidad del Valle.

AGRADECIMIENTOS

EL Autor expresa su agradecimiento al Departamento de Química de la Universidad del Valle (Cali-Colombia) y sus profesores, por la formación académica recibida. Al profesor Fernando Enrique Larmat por su apoyo y dirección en este proyecto, gracias por la confianza depositada desde que llegué al grupo de investigación. A mis compañeros de laboratorio especialmente a Cesar Arizabaleta por haber compartido conmigo sus conocimientos y su amistad, por sus consejos y atención a mis inquietudes. A los ingenieros Oscar Cisneros y Alfonso Cisneros, de la empresa Bobinados Técnicos Ingeniería S.A. por su comprensión, colaboración y por brindarme la oportunidad de aprender y crecer profesionalmente.

DEDICATORIA

A mi querida hija Juliana, por ser mi más noble motivación y enseñarme a perseverar en lo verdaderamente importante.

ABREVIACIONES

DA, Dopamina; AA, Ácido ascórbico; Au, Sensor electroquímico sin modificar; Au/OPPy, Sensor electroquímico modificado sin impresión molecular; Au/OPPy-DA, Sensor electroquímico modificado con impresión molecular para dopamina; VDP, Voltametría de pulso diferencial; VC, Voltametría Cíclica; LDD, Limite de detección; RSD, Desviación estándar relativa

REFERENCIAS

(1)Obata, T. Dopamine efflux by mptp and hydroxyl radical generation. *J. Neural Transm.* **2002**, 109, 1159–1180

(2)Maouche, N.; Guergouri, M.; Gam-Derouich, S.; Jouini, M.; Nessark, B.; Chehimi, M. M. Molecularly Imprinted Polypyrrole Films: Some Key Parameters for Electrochemical Picomolar Detection of Dopamine. *J. Electroanal. Chem.* **2012**, 685, 21–27

(3)Tsunoda, M. Recent Advances in Methods for the Analysis of Catecholamines and Their Metabolites. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 386, 506–514.

(4)Xu, X.D.; Zhang, H.Y.; Shi, H.M.; Ma, C.L.; Cong, B.; Kang, W.J. Determination of three major catecholamines in human urine by capillary zone electrophoresis with chemiluminescence detection. *Anal. Biochem.* **2012**, 427, 10–17.

(5)Naccarato, A.; Gionfriddo, E.; Sindona, G.; Tagarelli, A. Development of a simple and rapid solid phase microextraction-gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method for the analysis of dopamine, serotonin and norepinephrine in human urine. *Anal. Chim. Acta* **2013**, 810, 17–24.

(6)Sharma, P. S.; Pietrzyk-Le, A.; D'Souza, F.; Kutner, W. Electrochemically Synthesized Polymers in Molecular Imprinting for Chemical Sensing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, 402, 3177–3204.

(7)Malhotra, B. D.; Chaubey, A.; Singh, S. P. Prospects of conducting polymers in biosensors. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 578, 59–74.

(8)Waltman, R. J. B. J. Electrically Conducting Polymers: A Review of the Electropolymerization Reaction, of the Effects of Chemical Structure on Polymer Film Properties, and of Applications towards Technology. *J. Chem.* **1986**, 64, 76–95.

(9)Ratautaite, V.; Ramanaviciene, A.; Oztekin, Y.; Voronovic, J.; Balevicius, Z.; Mikoliunaite, L.; Ramanavicius, A. Electrochemical Stability and Repulsion of Polypyrrole Film. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, 418, 16–21.

(10)IDEAM, Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. <http://institucional.ideam.gov.co/jsp/index.jsf> (Visitada Jun 8, 2016).

(11)Li, J.; Zhao, J.; Wei, X. A sensitive and selective sensor for dopamine determination based on a molecularly imprinted electropolymer of o-aminophenol. *Sensors Actuators B Chem.* **2009**, 140, 663–669.

(12)Qian, T.; Yu, C.; Zhou, X.; Ma, P.; Wu, S.; Xu, L.; Shen, J. Ultrasensitive Dopamine Sensor Based on Novel Molecularly Imprinted Polypyrrole Coated Carbon Nanotubes. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, 58, 237–241.

(13)Arizabaleta, C. et al. VIII Simposio Colombiano de Catálisis, VI Simposio de Química Aplicada. Síntesis y caracterización electroquímica de polipirrol como sensor químico basado en el concepto de impresión molecular para la detección selectiva de moléculas de interés biológico. *Revista de Investigación, Universidad del Quindío* (2013) 24,

(14)Do, P. T.; Do, P. Q.; Nguyen, H. B.; Nguyen, V. C.; Tran, D. L.; Le, T. H.; Nguyen, L. H.; Pham, H. V.; Nguyen, T. L.; Tran, Q. H. A Highly Sensitive Electrode Modified with Graphene, Gold Nanoparticles, and Molecularly Imprinted over-Oxidized Polypyrrole for Electrochemical Determination of Dopamine. *J. Mol. Liq.* **2014**, 198, 307–312.

(15)Tsai, T.-C.; Han, H.-Z.; Cheng, C.-C.; Chen, L.-C.; Chang, H.-C.; Chen, J.-J. J. Modification of Platinum Microelectrode with Molecularly Imprinted over-Oxidized Polypyrrole for Dopamine Measurement in Rat Striatum. *Sensors Actuators B Chem.* **2012**, 171-172, 93-101.

(16)Lv, X.; Hu, B.; Wang, Z.; Peng, J.; Weng, J. Two-Electron Oxidation of Dopamine Controlled by Surface Modification of Few-Layer Graphene. *Electrochim. Acta* **2015**, 180, 43-52.

(17)Mazzotta, E.; Picca, R. A.; Malitesta, C.; Piletsky, S. A.; Piletska, E. V. Development of a Sensor Prepared by Entrapment of MIP Particles in Electrosynthesised Polymer Films for Electrochemical Detection of Ephedrine. *Biosens. Bioelectron.* **2008**, 23 (7), 1152-1156.

(18)Tiwari, M. P.; Prasad, A. Molecularly Imprinted Polymer Based Enantioselective Sensing Devices: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2015**, 853 (1), 1-18.

(19)Menosalino S.; Fundamentos y aplicaciones de electroquímica; 1^{ra} Ed.; Universidad de los Andes: Mérida; **2004**; 122

(20)Gerard, C.; Chehhal, H.; Hugel, R.P.; Complexes of iron(III) with ligands of biological interest: Dopamine and 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid. *Polyhedron* **1994**, 13, 591-597.

(21)Menolasina, S.; Martín-Fernández, B.; García-Rodrigo, F. J.; López-Ruiz, B. Comportamiento Electroquímico de la Dopamina En Un Electrodo de Carbón Vítreo Modificado Con Laponita/glutaraldehído. *An. la Real Acad. Nac. Farm.* **2009**, 75 (3), 373-388.

(22)Sanchez-Rivera, A. E.; Corona-Avendaño, S.; Alarcón-Angeles, G.; Rojas-Hernández, A.; Ramí; Rez-Silva, M. T.; Romero-Romo, M. A. Spectrophotometric Study on the Stability of Dopamine and the Determination of Its Acidity Constants. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2003**, 59 (13), 3193-3203.

(23)Muratova, I. S.; Kartsova, L. a.; Mikhelson, K. N. Voltammetric vs. Potentiometric Sensing of Dopamine: Advantages and Disadvantages, Novel Cell Designs, Fundamental Limitations and Promising Options. *Sensors Actuators, B Chem.* **2015**, 207 (PB), 900-906.

(24)Miller, J.N.; Miller, J.C., Estadística y quimiometría para química analítica; Prentice Hall: Madrid, 2002; 126

(25)Samseya, J.; Srinivasan, R.; Chang, Y.-T.; Tsao, C.-W.; Vasantha, V. S. Fabrication and Characterisation of High Performance Polypyrrole Modified Microarray Sensor for Ascorbic Acid Determination. *Anal. Chim. Acta* **2013**, 793, 11-18.

(26)Jiang, G.; Gu, X.; Jiang, G.; Chen, T.; Zhan, W.; Li, X.; Wu, S.; Tian, S. Detection of Dopamine on a Mercapto-Terminated

Hexanuclear Fe(III) Cluster Modified Gold Electrode. *Talanta* **2015**, 137, 189-196.

